Aus der Abteilung für Nuklearmedizin
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. U. Feine
des Medizinischen Strahleninstituts der Universität Tübingen

Abhängigkeit der Milzsequestration von Erythrocyten nach verschiedenen BMHP - ^{197}Hg Konzentrationen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

Sigrid v. Kapff, geb. Sannwald
aus Stuttgart

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549627_0034

Aus der Abteilung für Nuklearmedizin
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. U. Feine
des Medizinischen Strahleninstituts der Universität Tübingen

Abhängigkeit der Milzsequestration von Erythrocyten nach verschiedenen BMHP - ^{197}Hg Konzentrationen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

Sigrid v. Kapff, geb. Sannwald
aus Stuttgart

1980

Dekan: Prof. Dr. H. Heimann
Berichterstatter: Prof. Dr. U. Feine

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (07472) 22145

Abhängigkeit der Milzsequestration

von Erythrocythen nach verschiedenen

BMHP - Hg^{197} Konzentrationen

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. EINLEITUNG.....

II. MATERIAL..... 6

III. METHODIK..... 8

IV. ERGEBNISSE..... 18

1.) Direkte Wirkung des BMHP an den Erythrocyten:

a. Price Jones Kurve..... 18

b. Enzymaktivitätsmessungen..... 19

2.) Clearance

a. Blutaktivitätsmessungen..... 21

b. Aktivitätsverlauf über Herz und Milz..... 37

c. Milzclearance..... 42

3.) Organaktivitätskurven..... 45

4.) Szintigrammqualität..... 48

V. DISKUSSION UND VERGLEICH MIT ANGABEN IN DER LITERATUR..... 53

VI. ZUSAMMENFASSUNG..... 63

VII. LITERATURVERZEICHNIS..... 64

I. EINLEITUNG

Die isolierte Milzszintigraphie fand in den sechziger Jahren ihren festen Platz in der Isotopendiagnostik (1, 8, 9, 12, 16, 33). Dabei macht man sich die spezifische Fähigkeit der Milz, nicht nur physiologisch gealterte, sondern vor allem auch serologisch, chemisch oder physikalisch artifiziell veränderte und geschädigte Erythrocyten aus dem Blut zu eliminieren und zu sequestrieren, zu Nutze. Die ersten szintigraphischen Darstellungen der Milz erfolgten 1960 durch Johnson und Mitarb. (20) und Winkelmann et al. (32) mit serologisch bzw. thermisch alterierten und mit Cr^{51} markierten Erythrocyten.

1964 führten Wagner und Mitarb. (30) die bis dahin einfachste und eleganteste Methode zur Milzszintigraphie ein, die auf einer chemischen Alteration der Erythrocyten durch BMHP - Hg^{197} beruht. Die Vorbereitungszeit verkürzte sich von 90 auf nur noch 5 Minuten, da die alterierende Substanz den radioaktiven Indikator enthält. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist, daß man mit einer Injektion bei einer sehr geringen Strahlenbelastung - die HWZ des Hg^{197} beträgt nur 2,7 Tage - nach 24 Std. zusätzlich noch ein Nierenszintigramm

schreiben kann (7, 11, 13, 22).

Wie Jacob und Jandl (17, 18, 19) festgestellt haben, sind Struktur, Form und Lebensfähigkeit der Erythrocyten primär von Gehalt und Aktivität der Membransulfhydrylgruppen abhängig. Erythrocyten, bei denen diese blockiert sind, werden ganz bevorzugt von der Milz abgefangen und sequestriert, in sehr viel höherem Maße, als vom übrigen RHS, wie auch Untersuchungen an Splenektomierten gezeigt haben (19, 9).

Quecksilber hat bekanntlich, was R. E. Benesch und R. Benesch (2) untersucht haben, eine auffallend hohe Affinität zu Sulfhydrylgruppen. Und von den bis dahin bekannten und getesteten Hg-haltigen SH-Inhibitoren wiederum wird BMHP am begierigsten und festesten an die Erythrocyten gebunden (31). Diese Bindung erfolgt nach Wagner und Mitarb. (30) vermutlich über die Proteinsulfhydrylgruppen unter Bildung eines R-Hg-S-Proteinkomplexes. Es ergibt sich eine relativ feste Bindung, die nach Schwartz (26) auch durch mehrmaliges Waschen nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Die durch das BMHP geschädigten Erythrocyten, die dabei auch ihre Plasto-Elastizität verloren haben, werden im perisinusalen Ma-

schenwerk der der roten Pulpa der Milz aufgefangen und sequestriert. In der Milz wird das Hg aus seiner Bindung freigesetzt, an das Serum abgegeben (26) und durch die Nieren ausgeschieden.

Die Szintigrammqualität ist verständlicherweise von einer möglichst hohen Sequestrationsrate der Milz abhängig. Von anderen Autoren wurden verschiedene BMHP - Konzentrationen verwendet und getestet. Sie lagen z.T. in einem höheren (14, 21, 22), z.T. im selben Konzentrationsbereich, wie er in dieser Arbeit untersucht wurde. Schwartz und Mitarb. (26) konnten durch Messungen im Vollblut eine Beeinflussung der Eliminationsgeschwindigkeit durch unterschiedliche BMHP-Dosen nicht sicher nachweisen. Kuba et al. (21) fanden keine Korrelation zwischen BMHP - Konzentration und Eliminationsgeschwindigkeit.

Es stellte sich daher die Frage:

Welches ist die optimale Konzentration für eine möglichst gute Sequestrationsleistung und damit für eine vorübergehend hohe Aktivitätsspeicherung in der Milz bei einer möglichst

niedrigen Dosierung?

Ein Bild der Erythrocytenalteration gibt die Price - Jones - Kurve (24). Ein Ausdruck und Maß der Sequestration sind die Hemmung bestimmter Fermentsysteme in den roten Blutkörperchen durch das BMHP, die Aktivitätsanreicherung in der Milz und die Milzclearance. Es wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, wieweit diese meß- bzw. berechenbaren Größen und Faktoren von der BMHP-Konzentration abhängen und etwas Signifikantes über die Sequestrationsleistung der Milz aussagen. Die Erythrocytenlebenszeit, die durch unsere Substanz ja auch deutlich herabgesetzt wird, wurde von Blendinger eingehend untersucht und bearbeitet (3) und wird hier deshalb nicht mehr ausführlich besprochen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in den Jahren 1966 bis 1969 gewonnen und werden jetzt vorgelegt. Seit Mitte der siebziger Jahre werden Milzszintigramme vielfach mit ^{99m}Tc-markierten, wärmealterierten Erythrocyten durchgeführt (1, 6). Die hier für BMHP - Hg^{197} vorgelegten kinetischen Daten erscheinen jedoch weiterhin von allgemeinem Interesse, da auch

heute noch zur isolierten Darstellung der Milz BMHP - Hg^{197} verwandt wird.

II. MATERIAL

1.) Substanzen:

a.) BMHP-Hg^{197} (Herstellung durch die Farbwerke Hoechst AG).

Der pH-Wert der isotonischen Lösung betrug 9, 5.

Die normale spezifische Aktivität lag bei 0, 1 mCi/mg BMHP.

Der Gehalt an Hg^{203} betrug <0, 01 % der Gesamtaktivität.

b.) ACD - Stabilisator

2.) Meßgeräte:

a.) NaJ-Bohrlochkristall von 1 3/4 x 2 Zoll der Firma Frieseke und Höpfner GmbH (Erlangen-Bruck) zur Messung der Blutproben.

b.) Das Gerät FH 90 der Firma Frieseke und Höpfner GmbH (Erlangen-Bruck) wurde bei den Oberflächen-

messungen über den Organen benutzt.

c.) Die Aktivitätskurven über Herz und Milz wurden mit dem Dualmeßstand der Firma Picker aufgezeichnet.

d.) Mit dem Magna-Scanner der Firma Picker wurden die Szintigramme geschrieben.

III. METHODIK

a.) Markierung und Alteration der Erythrocyten:

Den Patienten wurde aus der Cubitalvene mit einer etwas Liquemin enthaltenden Spritze eine vorher berechnete Menge Blut abgenommen und dieses mit der entsprechenden Menge BMHP - Hg^{197} versetzt. Der Inhalt der Spritze wurde nun 1 Min. lang durch vorsichtiges Schütteln gemischt. Das auf diese Weise inkubierte Blut wurde dann sofort reinjiziert.

Die Konzentrationen wurden folgendermaßen berechnet:

Das Mischungsverhältnis 0,31 mg BMHP/ml Blut = $9,1 \times 10^{-4}$ Mol pro Liter Blut, hatte sich bisher bei der Milzszintigraphie in der Tübinger Klinik ganz gut bewährt. Von dieser Standardkonzentration, die als Verhältnis Menge BMHP zu Blut = 1 : 1 bezeichnet sei, ausgehend, wurden folgende Konzentrationen errechnet und verwendet:

$1 : 1 = 9,1 \times 10^{-4}$ mol/l

$2 : 1 = 1,8 \times 10^{-3}$ mol/l

$1 : 2 = 4,6 \times 10^{-4}$ mol/l

$1 : 4 = 2,3 \times 10^{-4}$ mol/l

$1 : 6 = 1,7 \times 10^{-4}$ mol/l

$1 : 8 = 1,2 \times 10^{-4}$ mol/l

$1 : 10 = 9,1 \times 10^{-5}$ mol/l

Dabei betrug die injizierte Aktivität meist 200 µCi ^{197}Hg, in einigen wenigen Fällen 100 µCi.

b.) Price Jones Kurve

Von einer gesunden Versuchsperson wurden in Blutausstrichen der verschiedenen Konzentrationen von jeweils 300 Erythrocyten die Durchmesser bestimmt, z.T., bei Poikilocytose, in zwei Ebenen, wobei dann von den beiden Werten die Mittelwerte gebildet wurden. Trägt man diese Werte im Verhältnis zu ihrem prozentualen Anteil in ein Koordinatensystem ein, in dem die Abszisse die Erythrocytendurchmesser in µ und die Ordinate den prozentualen Anteil in % aufzeigt, so ergibt sich die

statistische Verteilungskurve nach Price - Jones (24).

c.) Enzymaktivitätsmessungen

Um mehr über das chemische Verhalten des BMHP und vor allem über die Auswirkung der verschiedenen Konzentrationen auf die Erythrocyten aussagen zu können, wurden in der 2. Untersuchungsreihe bei 16 und in einer 3. Reihe bei 14 Patienten die Hemmung von folgenden drei Fermentsystemen in in den Erythrocyten mitbestimmt: die GLutathion-Reductase (GR), die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) und die Pyruvatkinase (PK).

Dazu wurden vor und nach der Inkubation mit BMHP-Hg^{197} je 2 ml Blut zurückbehalten. Diese Enzymbestimmungen wurden dankenswerterweise im Labor von Herrn Prof. Waller, Med.-Univ-Klinik Tübingen, vorgenommen. Die Untersuchungsbedingungen waren bei insgesamt 27 Patienten der 2. Untersuchungsreihe genau dieselben wie in der ersten; die der 3. Reihe werden weiter unten erläutert.

d.) Aktivitätskurven - Eliminationskurven

Mit der Injektion begann die Aufzeichnung der Aktivitätskurven über Herz und Milz mit einem Dualmeßstand, der zwei abgeschirmte Szintillationsmeßköpfe besitzt, die an den entsprechenden Punkten der Körperoberfläche aufgesetzt werden. Die auftreffende Strahlung wird in Impulsraten umgewandelt und diese durch einen Doppellinienschreiber kontinuierlich aufgezeichnet. Dieser erste Aktivitätsverlauf wurde bis 30 Minuten nach der Injektion registriert. Um eine exaktere Auswertung zu ermöglichen, wurden die Kurven auf halblogarithmischen Maßstab übertragen. Daraus konnten dann mit Hilfe der Blutaktivität die Clearancewerte berechnet werden.

e.) Messung der Blutaktivität

15 und 30 Minuten nach der Injektion, also während der Aufzeichnung der Herz- und Milzkurven durch den Dualmeßstand wurde den Patienten jeweils ca. 5 ml Blut aus der Cubital vene entnommen, und zwar am contralateralen Arm der Injektion. Von diesen Blutproben wurde zunächst der Hämatokrit bestimmt, und 1 ml unverändert

als Vollblut gemessen.

In der 1. Untersuchungsreihe wurde dann noch 1 ml Serum gemessen und die Erythrocytenaktivität aus diesen beiden Werten berechnet. Bei einem Teil der Blutproben wurde die nach sorgfältigem Abpipettieren des Serums verbleibende Menge Erythrocyten 1 ml Blutes gemessen.

In der 2. Untersuchungsreihe wurde für die Bestimmung der Aktivität an den Erythrocyten wiederum 1 ml Blut abpipettiert und dieses 3-mal gewaschen. Dazu wurde es erst centrifugiert. Vom Centrifugat wurde der Serumüberstand vorsichtig abpipettiert, verworfen und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Damit wurden die roten Blutkörperchen aufgeschwemmt und durchmischt, um dann wieder centrifugiert zu werden. Nach zweimaliger Wiederholung dieser Waschung konnten auch diese Proben gemessen werden. Für die Bestimmung der Serumaktivität wurde der Rest des Blutes centrifugiert und der sich aus dem Hämatokrit ergebende prozentuale Anteil des Serums in 1 ml Blut abpipettiert und gemessen.

Die Messung aller Proben erfolgte im NaJ - Bohrloch-kristall.

Da ein Teil des BMHP durch SH-Gruppen verschiedener Plasmaanteile gebunden wird, wie Mundschenk und Fischer sowie Schwartz berichten (25, 26) und somit nicht an den Erythrocyten wirksam werden kann, wurde in einer 3. Untersuchungsreihe von 15 Patienten das BMHP-Hg^{197} gewaschenen roten Blutkörperchen zugesetzt und dabei die Erythrocytenzahl auf 2, 5 Mill. pro mm^3 Blut eingestellt: Das mit ACD - Stabilisator im Verhältnis 1 : 5 abgenommene Blut wurde in sterilen Centrifugen-gläschen, die mit steriler Aluminiumfolie verschlossen waren, 3 Min. lang bei 2000 - 2500 Umdrehungen centrifugiert. Das Serum wurde mit einer sterilen Spritze abgesaugt und durch die entsprechende Menge sterile physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Beim 2. und 3. Waschgang läßt sich die Erythrocytenzahl vollends korrigieren, wenn man sie nach jedem Waschen kontrolliert.

Das auf diese Weise präparierte Blut wurde dann wieder in eine sterile Spritze aufgezogen und dort, wie bei

den ersten beiden Untersuchungsreihen, mit BMHP-Hg^{197} versetzt. Nach einer Inkubationszeit von ebenfalls 1 Min. konnte es reinjiziert werden. Auch bei dieser Untersuchungsreihe wurde die Hemmung der drei Enzymsysteme Glutathionreduktase (GR), Glucose - 6 - Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH), und Pyruvatkinase (PK) bestimmt.

Die Ausgangsstandardkonzentration wurde bei dieser Gruppe, ausgehend vom Molekulargewicht des BMHP (340 g/l), korrigiert auf 0,34 mg BMHP pro ml Blut. Daraus ergaben sich folgende Konzentrationen:

1	: 1	=			10^{-3}	mol/l
1	: 2	=	5	x	10^{-4}	mol/l
1	: 4	=	2,5	x	10^{-4}	mol/l
1	: 5	=	2	x	10^{-4}	mol/l
1	: 6	=	1,6	x	10^{-4}	mol/l
1	: 8	=	1,2	x	10^{-4}	mol/l
1	: 10	=			10^{-4}	mol/l

Die Krankheitsbilder waren bei allen drei Untersuchten

Gruppen gemischt. Zum Teil handelte es sich um klinisch Milz-Gesunde Patienten: bei Oberschenkelsarkom, Collum - Neoplasma, Struma maligna etc. Der größere Teil umfaßte chronische Lymphadenosen, chronische Myelosen, akute Leukämie, Morbus Hodgkin, Polycythämia vera, unklare Tumoren im linken Oberbauch. Einige Patienten wurden bestrahlt, einige standen unter cytostatischer Therapie.

f.) Organaktivitätskurven

Unmittelbar nach der Aufzeichnung der Herz- und Milzkurven wurden zur weiteren Kontrolle der Aktivitätsverteilung in den Organen Oberflächenaktivitätsmessungen über Herz, Leber, Milz (von dorsal und ventral), über rechter und linker Niere vorgenommen. Als Meßgerät diente in diesem Falle ein Szintillationszähler, der die Strahlung in Impulsen angibt. Die Meßpunkte wurden gut markiert, um zu gewährleisten, daß immer dasselbe Organgebiet im Meßbereich lag. In den ersten Stunden nach der Injektion wurde häufiger gemessen, um einen genauen Verlauf zu bekommen, in den beiden darauffolgenden Tagen noch 1 - 2-mal täglich. Aus den korrigierten Werten

ergaben sich die Organaktivitätskurven.

g.) Szintigraphie der Milz

45 Min., besser noch 1 Std. nach der Injektion ist normalerweise ein so hohes Aktivitätsgefälle zwischen der Milz und den benachbarten Gewebspartien erreicht, daß mit der Szintigraphie begonnen werden kann. Diese Zeit ist am günstigsten, da ein Maximum an Aktivität in der Milz erreicht ist und sich noch relativ viel weniger in Leber und Nieren angereichert hat. Es wurden auch alle Szintigramme zu diesem Zeitpunkt geschrieben, und zwar mit dem Magna Scanner der Firma Picker. Sie wurden je nach besserer Impulsausbeute in Bauch- oder Rückenlage gemacht. Bei einem Teil der Patienten wurde nach 24 Std. ein Nierenszintigramm angefertigt.

Die erste Untersuchungsreihe umfaßte 66 Patienten, die zweite 27 und die dritte 15. Aus technischen oder klinischen Gründen, konnten nicht alle Messungen bei allen Patienten vorgenommen werden. Daher variiert die Zahl der Fälle in den einzelnen Ergebnisgruppen.

Eine Varianzanalyse wurde wegen der geringen Zahl der Fälle in den einzelnen Gruppen und wegen der grossen Streubreite der Ergebnisse nicht gemacht.

IV. ERGEBNISSE

1.) Direkte Wirkung des BMHP an den Erythrocyten.

a. Price Jones Kurve

Das Bild der Price Jones Kurve zeigt mit zunehmender BMHP - Konzentration eine deutliche Linksverschiebung, d.h. der mittlere Erythrocytendurchmesser nimmt ab. Der Gipfel der Kurve wandert von etwa 7,7 µ im Normalblutbild auf etwa 6,8 µ bei einem Konzentrationsverhältnis von 2 : 1 , das $1,8 \times 10^{-3}$ Mol pro l Blut entspricht. In den schwachen Konzentrationsbereichen liegen die Kurven sehr eng zusammen, deshalb sind sie hier der Übersichtlichkeit wegen, erst ab dem Mischungsverhältnis 1 : 4, das entspricht 2×10^{-4} mol pro l, dargestellt. Auffallend ist, daß die Basis mit steigender Konzentration breiter wird, was für eine zunehmende Anisocytose und damit Erythrocytenalteration spricht (24).

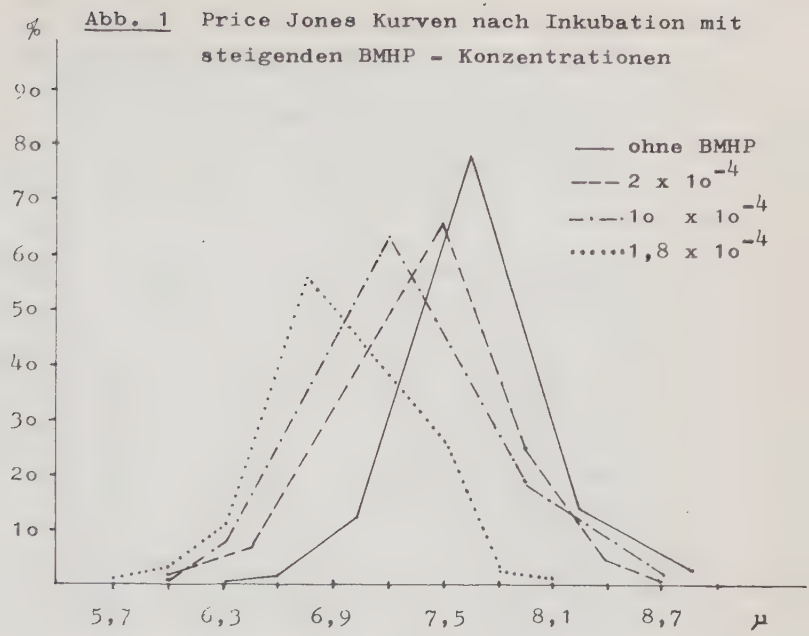


Abb. 1 Price Jones Kurven nach Inkubation mit steigenden BMHP - Konzentrationen

b. Enzymaktivitätsmessungen

Die Hemmung der Enzymaktivitäten wurde bei 16 Patienten der 2. Untersuchungsreihe bestimmt, die sich in 4 BMHP-Konzentrationsgruppen einteilen lassen. So ergeben sich 3 - 5 Probanden je Gruppe, von denen jeweils der Mittelwert errechnet wurde.

Alle 3 Fermentsysteme weisen zwar in der Standard-

konzentration die stärkste Hemmung auf, zeigen aber in den übrigen Konzentrationsbereichen keine klare Konzentrationsabhängigkeit:

Tab. 1 2. Untersuchungsreihe: Prozentuale Enzymaktivitätshemmung in Abhängigkeit von der Konzentration

Konz. x 10^{-4} (mol/l)		9,1	4,6	2,3	1,7-0,91
GR	%	71	43,8	38,4	50
G-6-PDH	%	30	9	17,2	8
PK	%	25,5	3,8	13,8	0

In der 3. Untersuchungsreihe (14 Personen), in der das BMHP gewaschenem Blut zugesetzt wurde, ergibt sich eine deutlichere Korrelation zwischen Konzentration und Enzymhemmung. Die GR weist in den beiden hohen Konzentrationen eine 100-prozentige Hemmung auf:

Tab. 2 3. Untersuchungsreihe: Prozentuale Enzymaktivitätshemmung in Abhängigkeit von der Konzentration

Konz. x 10^{-4} (mol/l)		10	5	2	1, 2 u. 1
GR	%	100	100	75, 6	26
G-6-PDH	%	65, 4	25, 8	17, 8	7
PK	%	46	18, 1	14, 3	6, 6

2.) Clearance

a.) Blutaktivitätsmessungen

1. Untersuchungsreihe:

Die erste Untersuchungsreihe umfaßte bei den Blutaktivitätsmessungen 41 Patienten, und zwar in dem Konzentrationsbereich

1 : 1	= $9,1 \times 10^{-4}$	mol/l	13 Personen
1 : 2	= $4,6 \times 10^{-4}$	mol/l	10 Personen
1 : 4	= $2,3 \times 10^{-4}$	mol/l	9 Personen
1 : 6	= $1,7 \times 10^{-4}$	mol/l	3 Personen
1 : 8	= $1,2 \times 10^{-4}$	mol/l	2 Personen
1 : 10	= $9,1 \times 10^{-5}$	mol/l	4 Personen

Die Konzentrationsbereiche 1 : 8 und 1 : 10 wurden als eine Gruppe zusammengefaßt. Von jeder Konzentrationsgruppe wurde der Mittelwert und die Standardabweichung des Mittelwertes errechnet.

Nach 20 und nach 60 Min. wurde bei einem Teil der Untersuchten 1 ml Vollblut und 1 ml Serum gemessen, und daraus der dem Hämatokrit entsprechende Serumanteil berechnet. Aus diesem Wert und der Vollblut-Impulszahl ergab sich die Erythrocytenaktivität. Diese Impulszahlen konnten dann ir die prozentualen Anteile der Aktivität umgerechnet werden, bezogen auf die Vollblutaktivität, die gleich 100 % gesetzt wurde.

Bei einem anderen Teil der Untersuchten wurden 1 ml

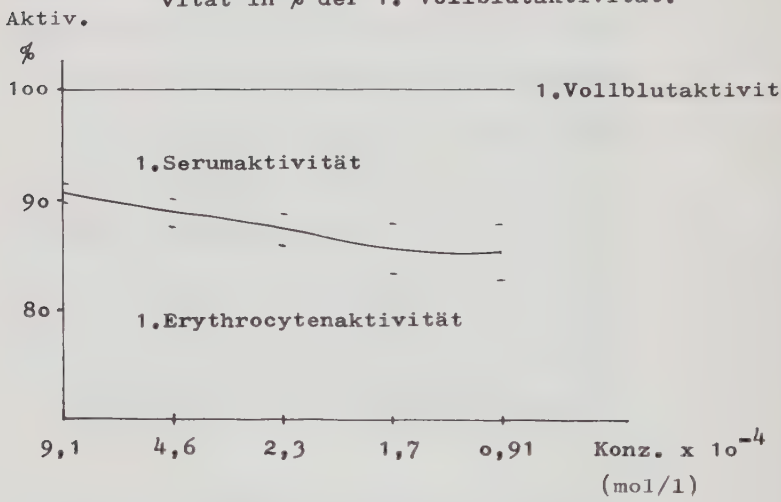
Vollblut, eine dem Hämatokrit nach berechnete und abpipettierte Menge Serum und die von 1 ml Vollblut nach Abpipettieren des Serums verbleibende Menge Erythrocyten gemessen. Durch Ungenauigkeiten beim Pipettieren oder beim Messen ergaben sich bei der Summe aus Erythrocyten- und Serumaktivität Werte, die etwas über oder unter den 100 % der Vollblutaktivität liegen. Von diesen Differenzwerten wurden die Mittelwerte ermittelt, die Meßwerte um diese korrigiert und danach die prozentuale Verteilung der Aktivität in Erythrocyten und Serum berechnet.

Betrachtet man die Mittelwerte der einzelnen Konzentrationsgruppen, so zeigt sich eine deutliche Korrelation zwischen Konzentration und Aktivitätsverteilung in Erythrocyten und Serum. In den höheren Konzentrationen ist signifikant mehr Aktivität an die Erythrocyten gebunden und weniger im Serum nachzuweisen. Auch sind die Streubreiten der Werte in den höheren Konzentrationsbereichen geringer als in den niedrigeren.

Die Kurven der 1. und der 2. Blutabnahme sind fast

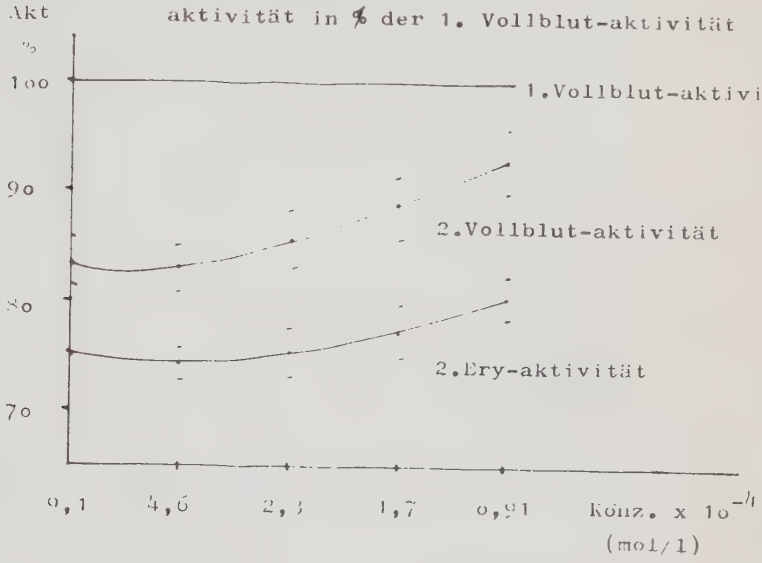
identisch. Die Werte differieren um O,2 - 1 %.

Abb.2 1. Untersuchungsreihe: 1.Ery- und 1.Serum-aktivität in % der 1. Vollblutaktivität.



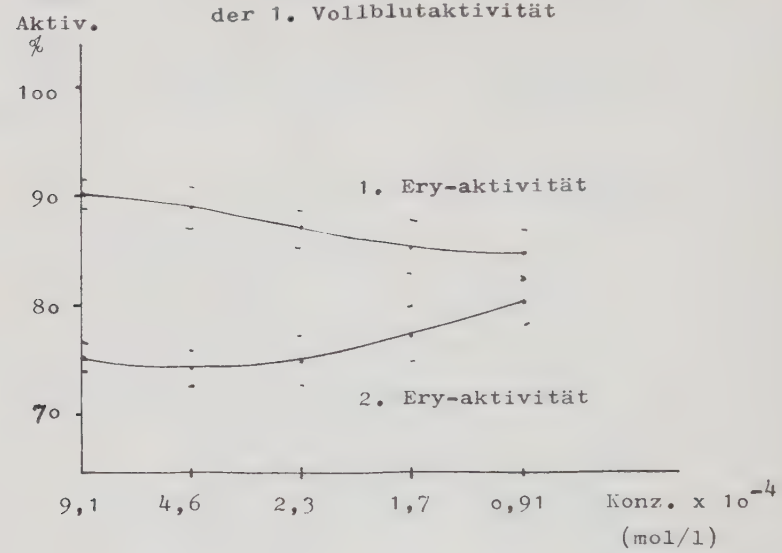
Die Impulsraten der Vollblutaktivität sowie der Erythrocytenaktivität der 2. Blutabnahme in ihrem prozentualen Verhältnis zur Vollblutaktivität der 1. Blutabnahme, die man dabei gleich 100 % setzt, zeigen, daß die Blutaktivität, und damit vor allem die Erythrocytenaktivität in den höheren Konzentrationen stärker abgefallen ist, als in den niedrigeren:

Abb.3 2. Vollblut-aktivität und 2. Erythrocyten - aktivität in % der 1. Vollblut-aktivität



Stellt man die Erythrocytenaktivität der 2. Blutabnahme der der ersten gegenüber, beides im prozentualen Verhältnis zur Aktivität der 1. Vollblutmessung, die wiederum gleich 100 % gesetzt wird, so wird das noch unterstrichen:

Abb.4 1. und 2. Erythrocyten-aktivität in % der 1. Vollblutaktivität



Die Aktivitätsdifferenz beträgt in den beiden hohen Konzentrationen 15 bzw. 14,96 %. Mit weiterer Verdünnung wird sie immer geringer: 11,86 %, 7,76 % und schließlich 4,45 %. Es wurden also mit zunehmender Verdünnung weniger Erythrocyten eliminiert.

2. Untersuchungsreihe:

Die Blutabnahme bei 27 Patienten der 2. Untersuchungs-

reihe erfolgte nach 15 und nach 30 Min. Hierbei wurden 4 ml Vollblut, die 3 mal gewaschenen Erythrocyten von 4 ml Blut und die dem Hämatokrit entsprechende Menge Serum gemessen. Die Erythrocytensuspension enthielt BMHP - Hg^{197} in den Konzentrationen:

2 : 1 = 18×10^{-4} mol/l	}	4 Personen
1 : 1 = $9,1 \times 10^{-4}$ mol/l	}	
1 : 2 = $4,6 \times 10^{-4}$ mol/l		9 Personen
1 : 4 = $2,3 \times 10^{-4}$ mol/l		7 Personen
1 : 6 = $1,7 \times 10^{-4}$ mol/l		3 Personen
1 : 8 = $1,2 \times 10^{-4}$ mol/l	}	3 Personen
1 : 10 = $0,91 \times 10^{-4}$ mol/l	}	

Von jeder Konzentrationsgruppe wurde der Mittelwert und die Standardabweichung des Mittelwertes errechnet, mit dem 2 σ Bereich.

Die Erythrocytenaktivität zeigt in der 1. wie in der 2. Blutabnahme eine deutliche Korrelation zur BMHP - Konzentration, indem sie mit zunehmender Verdünnung abfällt, während die Serumaktivität entsprechend ansteigt. Der Kurvenverlauf nach 15

und nach 30 Min. ist praktisch wieder identisch, daher kommt nur eine Kurve zur Darstellung.

Abb.5 2.Untersuchungsreihe: 1.Ery.-aktivität in % der 1.Vollblut-aktivität

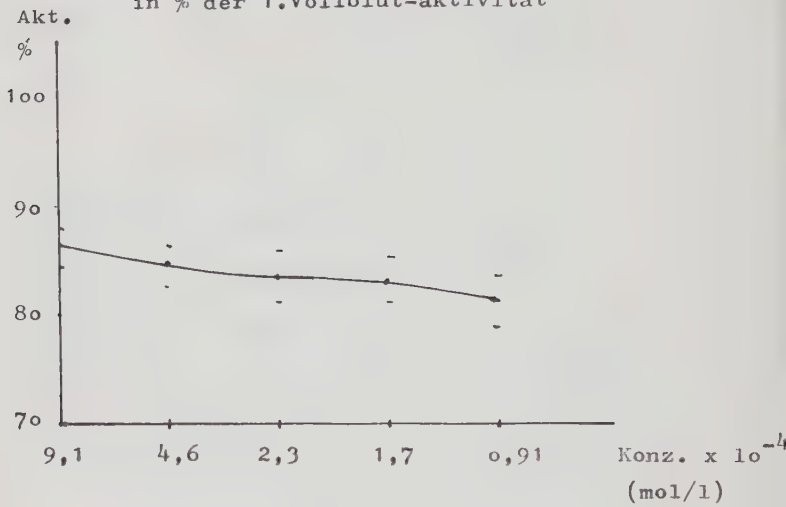
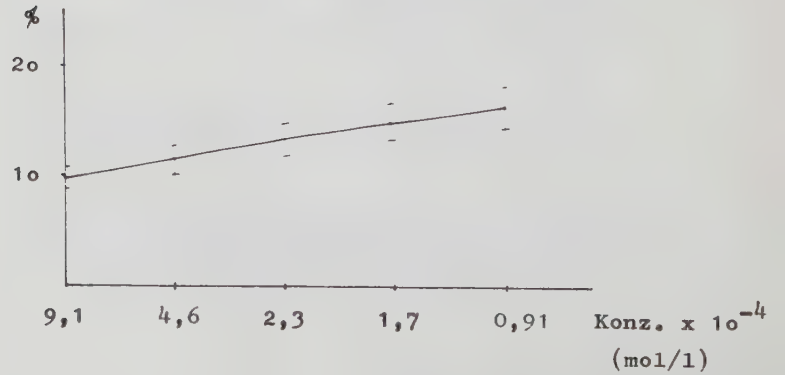


Abb. 6 2.Untersuchungsreihe: 1.Serum-aktivität in % der 1.Vollblut-aktivität



Die ausgewaschene Aktivität, die sich aus der Differenz zwischen Vollblutaktivität und Erythrocyten- plus Serumaktivität ergibt, liegt bei der 1. Blutabnahme zwischen 3 und 4 % und zeigt keine signifikante Abhängigkeit von der Konzentration:

Tab. 3 1. Elutions-Aktivität in % der 1. Vollblut-aktivität

Konz. $\times 10^{-4}$ mol/l	9,1	4,6	2,3	1,7	0,91
1. Elutions-akt. in % der Vollbl.-akt.	3,42	4,16	3,21	2,74	3,04
$\pm$ 2 σ	0,50	0,82	0,9	0,45	0,63

Bei der 2. Blutabnahme liegt die Elutionsaktivität in den beiden hohen Konzentrationen deutlich höher, als in den niedrigeren Konzentrationsbereichen:

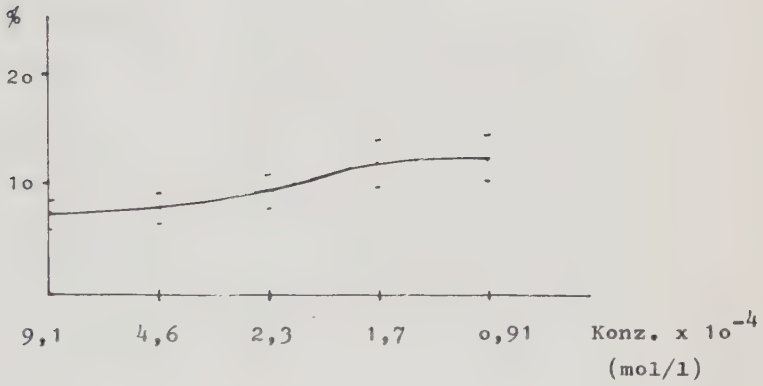
Tab. 4 2. Elutions-Aktivität in % der 2. Vollblut-Aktivität

Konz. $\times 10^{-4}$ mol/l	9,1	4,6	2,3	1,7	0,91
2. Elutions-akt. in % der 2. Vollbl. akt.	6,74	6,86	3,66	3,62	2,31
$\pm$ 2 σ	1,7	1,22	0,38	0,28	0,54

Dieses von den 15 -Min.-Werten abweichende Verhalten wird auf S. 58 zu erklären versucht.

Betrachtet man noch die 2. Serumaktivität in ihrem prozentualen Verhältnis zur 1. Vollblutaktivität, so zeigt sich, daß auch in diesem Falle in der Standardkonzentration und im Konzentrationsbereich 1 : 2 eine geringere Aktivität im Serum vorliegt, als in den stärkeren Verdünnungen.

Abb.7 2.Serum-aktivität in % der 1.Vollblut - aktivität



3. Untersuchungsreihe:

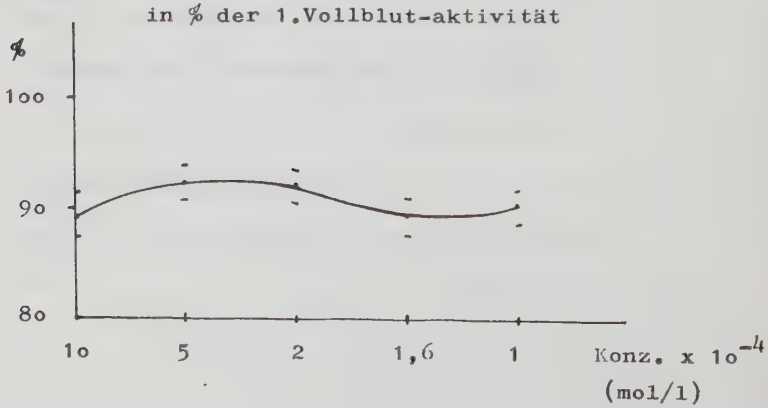
In der 3. Untersuchungsreihe wurde das BMHP - Hg^{197} gewaschenen Erythrocyten zugesetzt. Da die Hämatokritwerte der einzelnen Patienten sehr verschieden hoch lagen, wurde, um für die Alteration konstante Ausgangsbedingungen in allen Konzentrationsbereichen zu erhalten, die Erythrocytenzahl auf 2,5 Mill. Erythrocyten pro mm^3 eingestellt. Die Messung der Blutproben erfolgte genauso, wie in der 2. Untersuchungsreihe.

Die 15 Patienten lassen sich wiederum in 5 Konzentrationsgruppen unterteilen:

1 : 1 =	10^{-3} mol/l	2 Personen
1 : 2 =	5×10^{-4} mol/l	4 Personen
1 : 4 =	$2,5 \times 10^{-4}$ mol/l	3 Personen
1 : 5 =	2×10^{-4} mol/l	
1 : 6 =	$1,6 \times 10^{-4}$ mol/l	4 Personen
1 : 8 =	$1,2 \times 10^{-4}$ mol/l	
1 : 10 =	10^{-4} mol/l	2 Personen

Im Gegensatz zu den bisherigen Ergebnissen zeigt sich in dieser Untersuchungsreihe keine signifikante Korrelation zwischen Konzentration und Aktivitätsverteilung.

Abb.8 3.Untersuchungsreihe: 1.Ery-aktivität in % der 1.Vollblut-aktivität



Da sich die Kurven der 1. und der 2. Blutabnahme beinahe decken (die Werte differieren um 0,3 bis 1 %), wird nur eine dargestellt. Die Erythrocytenaktivität lag bei beiden Blutabnahmen in allen Konzentrationen zwischen 90 und 92 %. Die Gesamtmittelwerte über die beiden Konzentrationsreihen betragen 90,8 und 91 %, während sich die Serumaktivität zwischen 7 und 10 % bewegt, d.h. im Mittel 9,19 und 9,0 % beträgt.

Beurteilt man auch hier wieder die Werte der 2. Blutabnahme in ihrem prozentualen Verhältnis zur Vollblutimpulsrate der 1. Abnahme, d.h. in ihrer Relation zum Ausgangswert, so ergibt sich folgendes Bild:

Tab. 5 3. Untersuchungsreihe: Aktivitäten der 2. Blutabnahme in % der Vollblut-Aktivität der 1. Blutabnahme (und 2σ Bereich)

Konz. x 10^{-4} (mol/l)	10	5	2	1,6	1
2. Vollbl. akt. in % der 1. Vollbl. akt.	88,88 ± 2,24	95,83 ± 2,85	93,64 ± 1,45	94,87 ± 3,52	90,05 ± 2,7
2. Ery-akt. in % der 1. Vollbl. akt.	80,77 ± 0,86	88,77 ± 1,93	85,85 ± 0,86	84,09 ± 4,79	82,46 ± 2,97
2. Serum-akt. in % der 1. Vollbl. akt.	7,56 ± 1,52	7,01 ± 0,83	7,56 ± 0,82	10,88 ± 1,55	7,59 ± 1,22

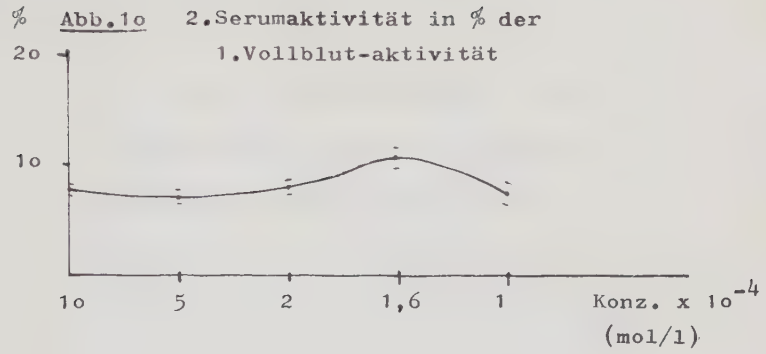
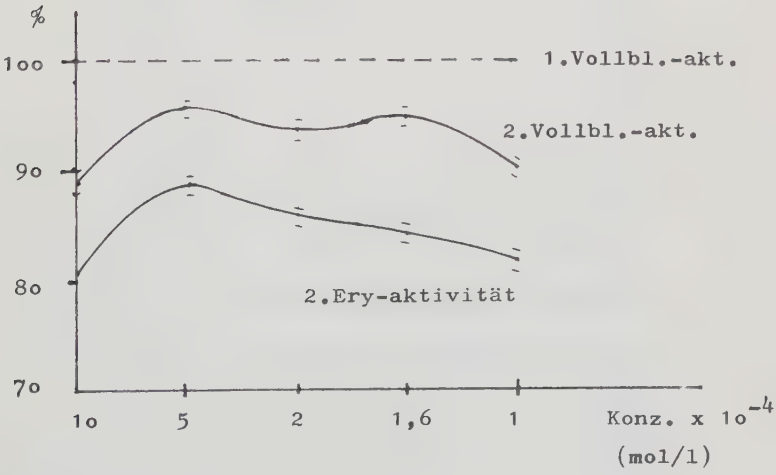


Abb.9 2.Vollblut-akt. und 2.Ery-akt. in % der 1. Vollblut-akt



Die Gesamtmittelwerte sind

der 2. Vollblutaktivitäten	92,65 %
der 2. Erythrocytenaktivitäten	84,40 %
der 2. Serumaktivitäten	8,23 %

Die Elutionsaktivität dieser Untersuchungsreihe zeigt keine Abhängigkeit von der BMHP-Konzentration und liegt in allen Konzentrationen zwischen O und 1 %. Das bedeutet, daß sich praktisch keine Aktivität auswaschen ließ:

Tab, 6 Ausgewaschene Aktivität in % der Vollblutaktivität

Konz. $\times 10^{-4}$ (mol/l)	10	5	2	1,6	1
1. Blutabnahme (%)	O	1,41	O,93	O,61	O,41
2. Blutabnahme (%)	O	1,5	1,19	1,2	O,39

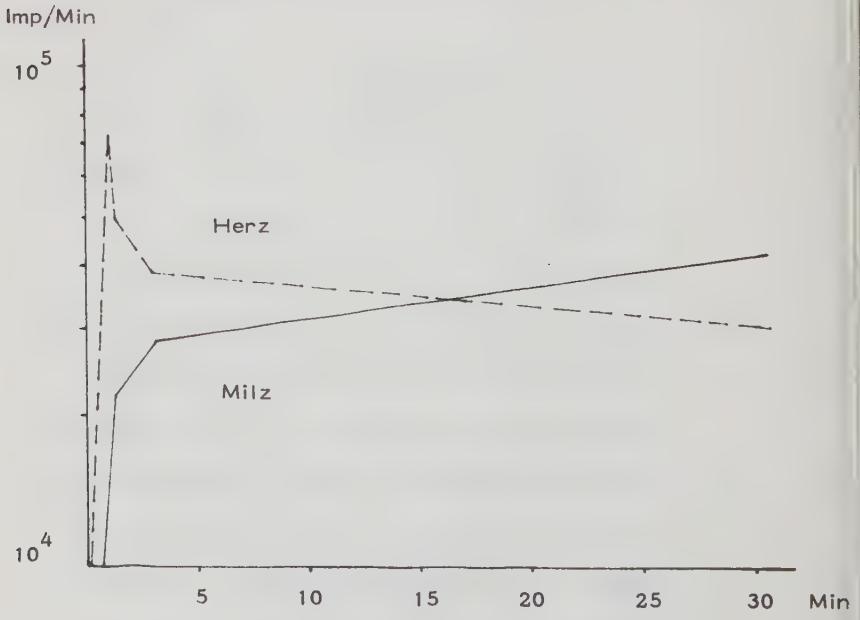
b.) Aktivitätsverlauf über Herz und Milz

Mit und unmittelbar nach der Injektion steigen beide Kurven sehr steil an, was der Aktivitätsanreicherung im Blut, also der Kreislaufzeit, entspricht. Dabei erreicht die Herzkurve sehr viel höhere Impulszahlen, da hier ein sehr viel größeres Blutvolumen mit der Messung erfaßt wird. Nach dieser Phase beginnt der eigentlich interessierende Kurvenverlauf. Er ist in den meisten Fällen biphasisch, zu einem Teil aber auch monophasisch. Die erste dieser beiden Phasen verläuft steiler und ergibt bei der nun abfallenden Herzkurve (= Blutkurve) eine HWZ von 4 - 12 Min. Die ansteigende Milzkurve weist eine dementsprechende Verdopplungszeit von 2,5 - 12 Min. auf, was der milzspezifischen Funktion, der raschen Elimination von alterierten Erythrocyten aus dem Blut entspricht. Dies bestätigt die Untersuchungen von Fischer, Mundschenk sowie Schwartz et al. (10, 25, 26). Die zweite Phase verläuft bei beiden Kurven aller Untersuchungsreihen sehr viel flacher und ergibt Halbwertzeiten und Verdopplungszeiten von 30 - 120 Min.

Diese Phase spiegelt die Anreicherung und Phagozytose von Erythrocytenfragmenten im gesamten RHS wieder.

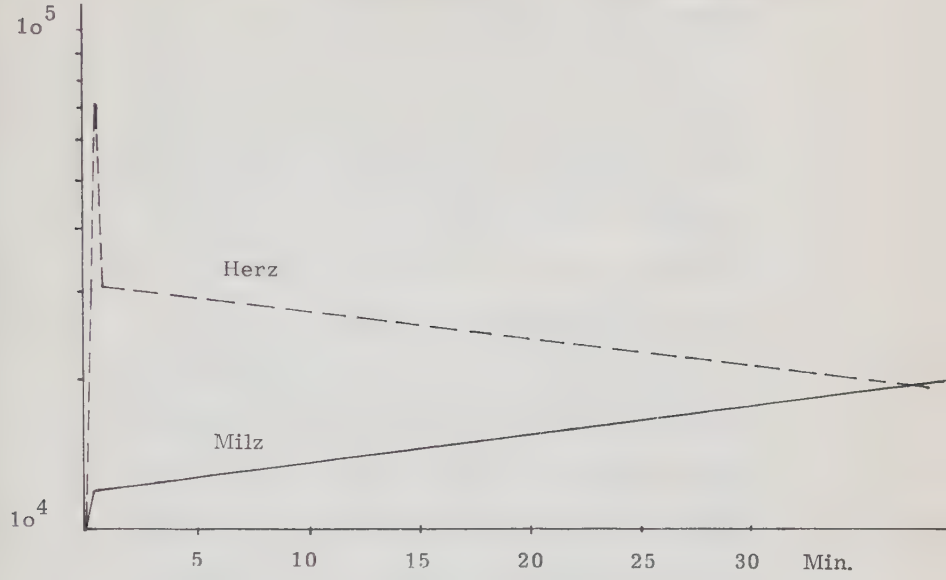
Betrachtet man die Kurven unter den verschiedenen Gesichtspunkten, so ergeben sich folgende Ergebnisse:

Abb. 11a Aktivitätsverlauf über Herz und Milz mit ungewaschenem Blut bei gesunder Milz



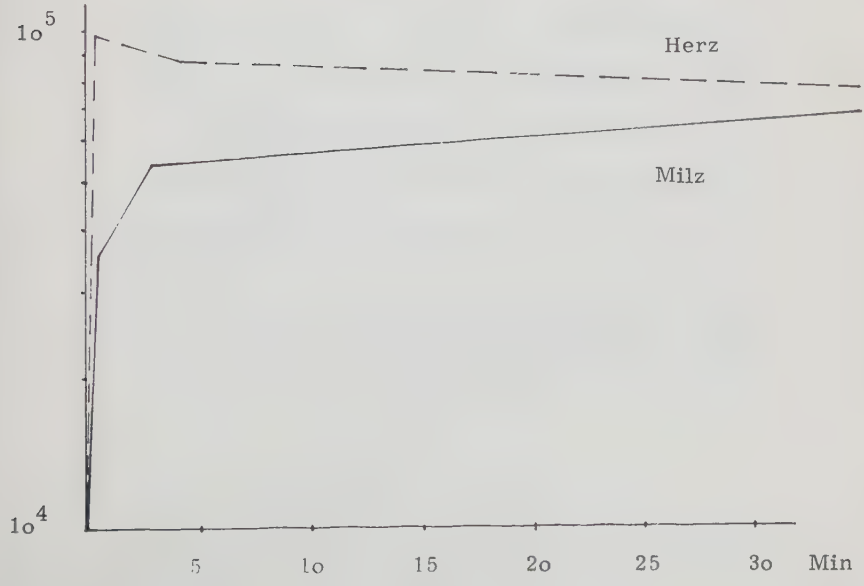
Akt.
Imp/Min

Abb. 11b. Aktivitätsverlauf über Herz und Milz mit ungewaschenem Blut bei pathologischer Milz



Akt.
Imp/Min

Abb. 11c Aktivitätsverlauf über Herz und Milz mit gewaschenem Blut bei pathologischer Milz



Bei den beiden Untersuchungsreihen, die mit u n g e - w a s c h e n e m B l u t durchgeführt wurden, verliefen die Kurven in 50 % der Fälle biphasisch und in 50 % monophasisch. Die biphasisch verlaufenden Kurven ergaben sich gleichmäßig verteilt bei Patienten mit vermutlich gesunder funktionsfähiger Milz, wie mit wahrscheinlich pathologisch veränderter Milz. Bei den monophasisch verlaufenden Kurven dagegen war der Anteil der Patienten mit wahrscheinlich krankhaft veränderter Milzfunktion 3 mal so hoch, wie der der milzgesunden, d.h. es fehlte in diesen Fällen die steile milzspezifische Phase. (s. Abb. 11 a und 11 b) Die verschiedenen Konzentrationen ergaben hierbei keine signifikanten Unterschiede.

Die Untersuchungsreihe, die mit g e w a s c h e n e m B l u t durchgeführt wurde, zeigt noch deutlicher, daß die Aufnahme der alterierten Erythrocyten in hohem Maße von dem Erkrankungsgrad, bzw. von dem Funktionszustand der Milz abhängig ist. Die Verdoppelungszeiten und die Halbwertzeiten liegen bei den Patienten mit pathologisch veränderter Milz fast durch-

weg höher, als bei den Patienten mit vermutlich voll funktionsfähigem Organ. Dabei muß berücksichtigt werden, daß in einigen Fällen nicht sicher zu beurteilen ist, wie weit die Funktion der Milz eingeschränkt ist. (s. Abb. 11 c)

Bei verschiedenen Patienten, die z.B. an einem M. Hodgkin oder einer chronischen Myelose erkrankt waren, haben wir mehrere Untersuchungen vorgenommen und erhielten z.T. ganz verschiedene Ergebnisse, je nachdem, in welchem Stadium der Erkrankung sie sich befanden, ob in einer Remissionsphase oder in einem akuten Schub.

Im Hinblick auf dei verschiedenen BMHP - Konzentrationen zeigte sich hier nun deutlich, daß die stärkeren Konzentrationen, 10^{-3} mol/l bis zu 2×10^{-4} mol/l günstigere Ergebnisse liefern, - auch in den Fällen mit pathologisch veränderter Milz.

Die t/2 Zeiten liegen hier zwischen 2,7 Min. und 19 Minuten und die Verdopplungszeiten der Milzkurve

zwischen 2, 3 und 13, 6 Minuten.

In den schwächeren Konzentrationen, $1,6 \times 10^{-4}$ mol/l bis 10^{-4} mol/l, liegen die t/2 Werte mit 1 Ausnahme (3, 15 Min.) zwischen 19, 7 und 37, 04 Minuten. Die Verdopplungszeiten der Milzkurve in den Konzentrationen $1,2 \times 10^{-4}$ mol/l und 10^{-4} mol/l liegen im Bereich von 9, 06 bis 16, 5 Minuten.

c.) Milzclearance

Aus den bisher vorliegenden Ergebnissen ließen sich nach folgender Formel die Clearance - Werte berechnen:

$$Cl = C \times V$$

$$Cl = \frac{\ln 2 \times \text{injizierte Dosis}}{t/2 \times \text{Plasmakonzentration}_{t_o}}$$

Um die Aktivitätskonzentration zum Zeitpunkt t_o im Blut berechnen zu können, mußte zuerst gemessen und berechnet werden, wieviel µCi einer bestimmten Im-

pulszahl der Bohrlochmessungen entsprechen. Dazu wurden 3 Proben inkubierten Blutes gemessen.

Der Mittelwert von 3 Meßwerten beträgt:

2 ml inkub. Blut ≙ 159730 Imp/Min.

Daraus ergibt sich:

0,2 µCi ≙ 205900 Imp/Min.

Dies ist ebenfalls der Mittelwert der 3 Berechnungen. Durch Einsetzen dieser Gleichung, sowie der Aktivitätsmessungen des 10 bzw. 15 Min. post injectionem abgenommenem Vollblutes und der Impulszahlen aus den praecordialen Aktivitätskurven, ergaben sich die Clearance-Werte. Da die Untersuchungsbedingungen der 1. und der 2. Reihe dieselben waren, wurde das arithmetische Mittel der beiden Reihen genommen. Sie umfaßten insgesamt 39 Personen, die sich in einzelne Konzentrationsgruppen zu je 11, 13, 11, 2 und 2 Personen aufteilen. Die dritte Untersuchungsreihe, die mit vor der Inkubation gewaschenem Blut durchgeführt wurde, bestand aus 14 Personen, die sich

ebenfalls in 5 Gruppen unterteilen ließen, zu je 2 - 4 Patienten.

Die Clearancewerte ergaben allerdings in keiner Untersuchungsreihe eine signifikante Abhängigkeit von der Konzentration.

Tab. 6 Milzclearance in Abhängigkeit von der Konzentration (M und 2 σ Bereich)

Konz. x 10^{-4} (mol/l)	10	5	2	1,6	1
Cl 1 u. 2 (ml/Min.)	47,73	37,71	58,53	30,65	34,57
$\pm$ 2 σ	5,53	4,57	6,4	1,2	4,0
Cl 3 (ml/Min.)	41,18	14,19	16,71	33,18	58,65
$\pm$ 2 σ	5,36	2,35	2,56	5,86	3,97

Cl 1 und 2 = Clearance der 1. und 2. Untersuchungsreihe, mit ungewaschenem Blut durchgeführt.

Cl 3 = Clearance der 3. Untersuchungsreihe, die mit gewaschenem Blut durchgeführt wurde.

3.) Organaktivitätskurven

Die Organaktivitätskurven schließen an die Kurven, die mit dem Dualmeßstand über Herz und Milz gemessen wurden, an: die Milz erreicht ihr Maximum an Impulszahlen, und damit die maximale Aufnahme alterierter Erythrocyten, ca. 1 Std. nach der Injektion. Zu diesem Zeitpunkt erhält man auch die optimalsten Szintigramme. Im Anschluß daran erfolgt über 2 - 3 Std. ein steiler und danach erst ein flacher kontinuierlicher Abfall der Aktivität, d.h. die Milz hat die alterierten Erythrocyten sequestriert und gi bt die verschiedenen Substanzen an die Leber ab. Dort steigt die Aktivität jetzt erst zu ihrem Maximum an, um dann langsam, aber kontinuierlich abzufallen. Über den Nieren dagegen beginnen die Aktivitätskurven 20 - 22 Stunden nach der Injek-

tion zu steigen und erreichen ihr Maximum nach 24 - 48 Stunden.

Die gemessenen und korrigierten Impulszahlen wurden auf halblogarithmisches Papier aufgetragen und ergaben so die Organaktivitätsve r laufskurven.

Setzt man den Kurvenverlauf in Beziehung zu den verschiedenen Krankheitsbildern, so ergibt sich wiederum eine gewisse Abhängigkeit vom jeweiligen Funktionszustand der Milz. Eine signifikante Korrelation zur Konzentration ergab sich hierbei jedoch nicht.

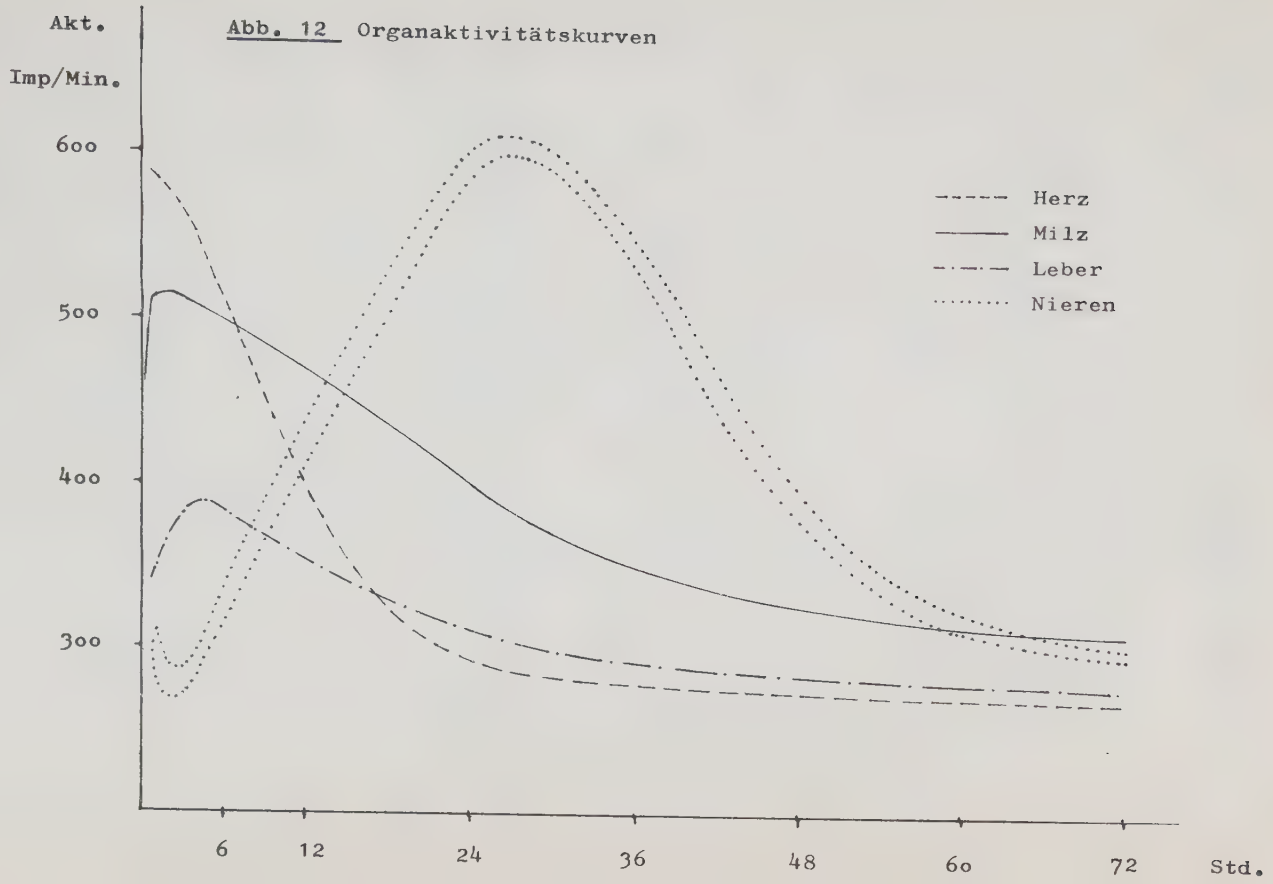


Abb. 12 Organaktivitätskurven

4.) Szintigramm - Qualität

Die Qualität des Szintigramms hängt entscheidend von der Kontrastintensität im Vergleich zur Umgebung und damit von einer hohen spezifischen Aktivität der Milz ab. Die Beurteilung der Szintigramme wurde daher nach folgenden Kriterien vorgenommen:

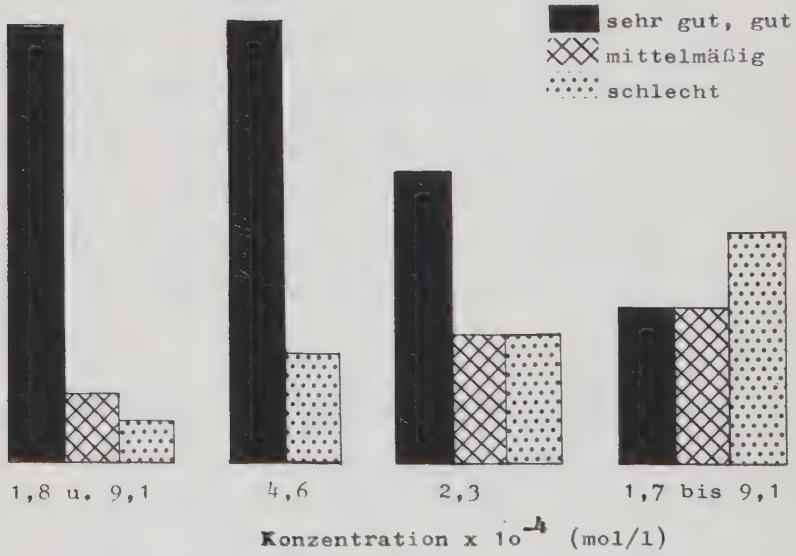
1. Darstellung der Milz? (ja - nein)
2. Mitdarstellung anderer Organe? (Herz - Blutvolumen, Leber, Nieren).
3. Intensität der Anfärbung der Milz gegenüber der Umgebung.

Bei 88 Patienten der 1. und 2. Untersuchungsreihe und 16 der 3. Reihe ergab sich folgende Qualitätsverteilung:

Tab. 7 Szintigrammqualität in Abhängigkeit von der Konz. bei ungewaschenem Blut.

Konz. $\times 10^{-4}$ mol/l	Ges. Zahl	Szintigr. Qualität u. Zahl der Fälle in %				
		sehr gut u. gut		mittel-mäßig	schlecht u. sehr schlecht	
18		22	9	5	2	1
und	39	54,4 %	23 %		5 %	2,5 %
9,1		= 79,5 %		12 %	7,7 %	
		11	9		2	3
4,6	25	44 %	36 %	O	8 %	12 %
		80 %			20 %	
		8	1	4	2	2
2,3	17	47 %	5,8 %		11,8 %	11,8 %
		53 %		23 %	23,5 %	
1,7		2	O	2	2	1
bis	7	28 %		28 %	28 %	14 %
O,91		28 %		28 %	42 %	

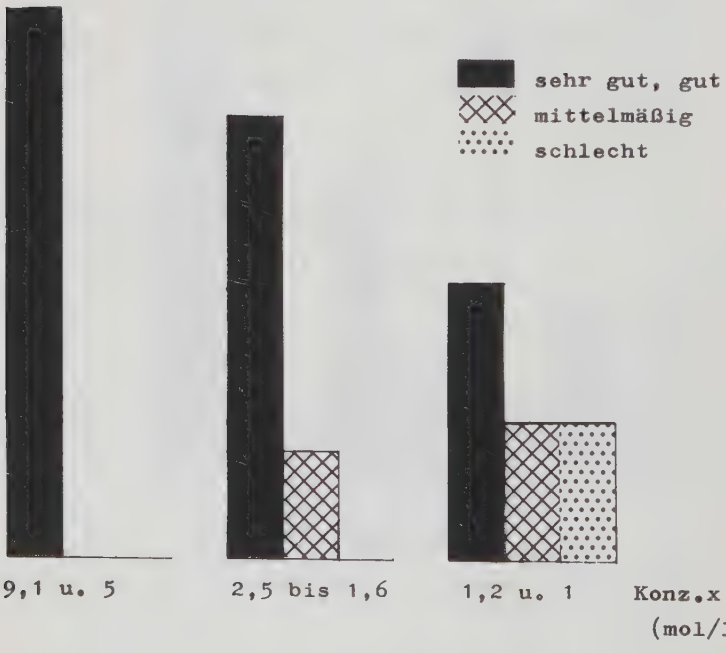
Abb. 13 Szintigrammqualität in Abhängigkeit von der Konzentration bei ungewaschenem Blut



Tab. 8 Szintigrammqualität in Abhängigkeit von der Konz. bei gewaschenem Blut

Konz. $\times 10^{-4}$ mol/l	Ges. Zahl	Szintigr. Qualität u. Zahl der Fälle in %				
		sehr gut u. gut		mittel-mäßig	schlecht	sehr schlecht
9, 1 und 5	7	6	1	0	0	0
		≙ 100 %				
2, 5 bis 1, 6	5	3	1	1	0	0
		≙ 80 %				
1, 2 und 1	4	1	1	1	1	0
		≙ 50 %		25 %	25 %	

Abb.14 Szintigrammqualität in Abhängigkeit von der Konzentration bei gewaschenem Blut



V. DISKUSSION UND VERGLEICH MIT ANGABEN IN DER LITERATUR

Die Wirkung des BMHP auf die Erythrocyten und die Festigkeit der Bindung dieser Substanz an die roten Blutzellen wurde von einigen Autoren untersucht (10, 25, 26, 30). Nach Mundschenk und Fischer (25) ist das BMHP in alkalischer Lösung beständig und wird als solche dem Blut zugesetzt, das jedoch auf Grund der Pufferwirkung von Plasma und Zellen einen pH-Wert von 7 - 8 hält. Daher fällt das BMHP in einen flockigen Niederschlag und scheidet sich in kleinen Molekülaggregaten auf der Erythrocytenoberfläche ab, wo sie zunächst adsorptiv gebunden werden. So können sie einerseits mit den SH-Gruppen der Zellmembran Bindungen eingehen, andererseits aber auch durch Diffusion in das Zellinnere eindringen und dort auf einige Enzyme des Erythrocytenstoffwechsels hemmend einwirken, z.B. auf die Glutathionreduktase (GR), die Glucose - 6 - Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) und die Pyruvatkinase. Dies entspricht Vorgängen des physiologischen Alterungsprozesses der Erythrocyten, die Löhr u. Mitarb. (23) beschrieben haben: ein Abfall der G - 6 - PDH führt zu einer Blockierung

des Pentosephosphatcyklus, was wiederum eine Störung der Nukleotidsynthese zur Folge hat. Ein Mangel oder eine Hemmung der PK verursacht einen Rückgang der ATP-Bildung in der Zelle.

Bei den vorliegenden Ergebnissen ist eine Korrelation zwischen Enzymhemmung und BMHP-Konzentration nur in der 3. Untersuchungsreihe zu erkennen, in der gewaschene Erythrocyten mit konstanter Zellzahl mit dem alterierenden Agens versetzt wurden. Wobei jedoch darauf hingewiesen werden muß, daß die Schwankungsbreite der einzelnen Ergebnisse sehr groß und außerdem die Zahl der Fälle in den einzelnen Konzentrationsgruppen relativ klein ist.

Die 2. Untersuchungsreihe zeigt dagegen keine klare Relation zwischen Enzymhemmung und zugesetzter BMHP-Menge. Lediglich in der Standardkonzentration weisen alle 3 Fermentsysteme die stärkste Hemmung auf.

Die entscheidende Rolle bei der Alteration der Erythrocyten durch BMHP spielt wohl nicht die Hemmung der Enzyme in der Zelle, sondern die Hemmung der Membransulfhydrylgruppen.

Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen von Blendinger (3) bei Untersuchungen über die Erythrocytenlebenszeit.

Teitel stellte in Experimenten mit einem Erythrocytenfiltrationstest fest (29), daß die Plastizität, die für die Fähigkeit der Filtration obligatorisch ist, von dem biophysikalischen Verhalten der Membranen abhängt.

Mundschenk und Fischer (25) haben beobachtet, daß bei äquivalenter Beladung mit Schwermetallen (Ag^{+} und Hg^{+++}) die Zellen in ähnlicher Weise alteriert und aus dem Blut eliminiert werden. Dabei geht das Ag^{+} eine feste Bindung mit den Erythrocyten ein, und konnte auch durch mehrmaliges Waschen mit isotonischer Kochsalzlösung nicht eluiert werden.

Jacob und Jandl (17, 18, 19) untersuchten das Verhalten und die Lebensfähigkeit von Erythrocyten, deren Membransulfhydrylgruppen durch spezifische Inhibitoren blockiert wurden: durch p-mercuribenzoat, das den Kationengradienten in der Zellmembran verändert, ohne dann in die Zelle einzudringen, und N-aethylmaleinimid, das das intracelluläre Glutathion blockiert, was zur Hämolyse führen kann.

Diese Untersuchungen ergaben keine Relation zur Hemmung der zellulären Glykolyse, oder des Glutathions oder der intrazallulären Sulfhydrylgruppen. Sie bestätigen, daß die Form und die Lebensfähigkeit der Erythrocyten primär von der Intaktheit der Membransulfhydrylgruppen abhängt, was ja auch Benesch und Benesch (2) schon feststellten. Dies ergibt sich auch bei den vorliegenden Untersuchungen.

Daß sich die Erythrocyten mit den hier verwandten BMHP-Konzentrationen in ihrer Form verändern, zeigt die Price-Jones-Kurve sehr deutlich. Das Maximum der Verteilung wandert von 7,5 µ bis auf 6,8 µ. Mundschenk und Fischer (10) fanden in Untersuchungen an Rattenerythrocyten mit BMHP-Konzentrationen bis zu 5 und 10 mg/ml eine Verschiebung des Gipfels der Kurve von 6,25 µ nach 5 µ.

Auf Grund der Blutaktivitätsmessungen kann man sagen, in der Standardkonzentration 10^{-3} mol/l und bei 5×10^{-4} mol/l war mehr Aktivität an die Erythrocyten gebunden und weniger im Serum nachzuweisen. Nach 1/2 bis 1 Std. waren in diesen höheren Konzentrationsbereichen mehr alterierte Erythrocyten aus dem Blut eliminiert worden, die ery-

throcytengebundene Aktivität ist in den Konzentrationen 10^{-3} mol/l und 5×10^{-4} mol/l daher stärker abgefallen. Im Serum befindet sich zu diesem Zeitpunkt in den höheren Konzentrationen weniger Aktivität als in den niedrigen.

Diese Ergebnisse beruhen wohl darauf, daß das BMHP in den höheren Konzentrationen eine intensivere erythrocytenalterierende Wirkung hervorrufen kann und diese dadurch schneller aus dem Kreislauf eliminiert werden.

Dies stellten auch Mundschenk und Fischer (26), sowie Schwartz und Knoll (25) fest. Sie arbeiteten zu einem Teil in einem Konzentrationsbereich, der dem der vorliegenden Arbeit in etwa entspricht, und zwar von 0,9 mg BMHP/ml Blut. Die höchste Konzentration dieser Untersuchungen betrug 0,68 mg/ml. Somit lassen sich diese Ergebnisse vergleichen. Die Autoren gingen jedoch auch in wesentlich höhere Konzentrationen, bis zu 4 und 5 mg BMHP/ml Blut, stellten dabei allerdings fest, daß eine solche Erhöhung der Beladung der Erythrocyten keine adäquate Steigerung der Elimination ergab.

Im Serum befindet sich zum Zeitpunkt der 2. Blutabnahme nach wie vor in den höheren Konzentrationen weniger Aktivität als in den niedrigeren. Das bedeutet, daß das Ziel, eine höchstmögliche Bindung der radioaktiv markierten Substanz an die Erythrocyten und damit eine möglichst intensive Alteration bei andererseits geringer Aktivitätsmenge im Serum, mit der Standardkonzentration 10^{-3} mol/l, dem Bereich von 5×10^{-4} mol/l und eventuell noch $2,5 \times 10^{-4}$ mol/l am besten erreicht wird.

Auffallend ist die Tatsache, daß in der 2. Untersuchungsreihe die ausgewaschene Aktivität zum Zeitpunkt der 2. Blutabnahme in der Standardkonzentration und bei 5×10^{-4} deutlich höher liegt, als in den übrigen Konzentrationsbereichen. Man kann wohl annehmen, daß nach dieser Zeitspanne die durch die höhere BMHP-Konzentration physikalisch und chemisch stärker beeinträchtigten Erythrocyten bereits aus dem Kreislauf eliminiert waren und der verbleibende Rest keine so intensive Bindung mit den Blutzellen eingehen konnte.

Blendinger (3) fand bei Waschversuchen an Erythrocyten einen Aktivitätsverlust von 10,1 % nach dem ersten und von 7,3 % nach dem 2. Waschvorgang. Diese Versuche wurden jedoch an frisch inkubiertem Blut vorgenommen, das nicht reinjiziert worden war, während bei den hier beschriebenen Untersuchungen das Blut einige Zeit nach der Reinjektion entnommen wurde, so also der Organismus auf das mit BMHP versetzte Blut eingewirkt hatte.

Die 3. Versuchsreihe gab die Möglichkeit, die Sulfhydrylgruppen des Serums vor der Inkubation zu eliminieren. So konnte eine maximale Dosis BMHP-Hg^{197} an die Erythrocyten gebunden werden, und zwar, wie die Versuchsergebnisse zeigen, 90 - 92 % der aktiven Substanz, unabhängig von der Konzentration. Dies bestätigt in-vitro-Versuche von Schwartz und Mitarb. (25).

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben aber auch, daß dieser Prozentsatz sich, selbst unter diesen Bedingungen, nicht weiter erhöht. Wenn die inkubierte Erythrocytensuspension in den Kreislauf injiziert wird, nimmt das Serum 8 - 10 % der Aktivität auf.

Bemerktenswert ist die Tatsache, daß sich praktisch keine Aktivität auswaschen läßt, wenn das BMHP-Hg^{197} gewaschenen Erythrocyten zugesetzt wird. Die Bindung des BMHP an die Erythrocyten ist so fest, daß sich auch durch die Manipulation des 3-maligen Waschvorganges nichts mehr löst.

Die Annahme, daß die Konzentration eine deutliche Relation zur Milzclearance zeigt, hat sich nicht bestätigt. Offenbar müssen, wie Duesberg und Fischer berichten (4) andere Funktionsgrößen eine entscheidendere Bedeutung haben.

Es zeigte sich auch, daß die Clearance kein Parameter für die Szintigrammqualität darstellt.

Fehlerquellen und Faktoren, die die Ergebnisse beeinflussen, ergeben sich an verschiedenen Punkten der Untersuchungen: zunächst bei der Bestimmung des Hämatokrits, nach dem die zu messende Serummenge berechnet wurde, außerdem beim Abpipettieren der verschiedenen Blut- und Serummengen.

Einen relativ großen Einfluß auf die Alterationsfähigkeit, und damit auch auf die Untersuchungsergebnisse, haben sicherlich biologische Faktoren: Tumoranämien, Cytostatica- oder Strahlentherapie verändern die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Erythrocyten und setzen damit auch ihre Lebenszeit herab, wie Blendinger nachwies (3) und Wolf et al. (33). Trifft die Noxe auf vorgeschädigte Erythrocyten, so werden diese viel leichter und schneller eliminiert, als die roten Blutzellen von hämatologisch gesunden Patienten.

Mitentscheidend für die Eliminationsgeschwindigkeit ist aber auch der Funktionszustand der Milz, der abhängig ist von der Art (M. Hodgkin, Formen der Leukämie, etc.) und vom Stadium der Erkrankung. Je nachdem ist die Milz in ihrer Sequestrationsleistung geschwächt, normal funktionsfähig, oder eliminiert in verstärktem Maße Erythrocyten aus dem Kreislauf.

Dies bestätigen auch die Organaktivitätskurven, die bei verschiedenen Krankheitsbildern auch geringe Abweichungen in ihrem Verlauf zeigen.

Betrachtet man die Szintigrammqualität als Parameter der Sequestrationsleistung unter verschiedenen BMHP-Konzentrationen, so ergibt sich ebenfalls, daß die höheren Konzentrationsbereiche 10^{-3} mol/l und 5×10^{-4} mol/l die besten Voraussetzungen für eine ausreichende Sequestration liefern, und damit für höhere Szintigrammqualitäten.

Mundschenk und Fischer (25) sowie Henning u. Mitarb. (15), wiesen nach, daß bei steigender Beladung der Erythrocyten mit BMHP (bis zu 3 mg BMHP / ml Blut) der größte Teil der Aktivität von der Leber und den Nieren aufgenommen wird, während die Anteile von Milz, Herz und Blut deutlich zurückgehen.

Vergleicht man noch die Ergebnisse der 3. Untersuchungsreihe mit denen der 1. und der 2., so muß man sagen, daß der große Aufwand dieser Untersuchungsvorbereitungen in keiner Relation zur Verbesserung der Ergebnisse steht.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

An 108 Patienten wurde im Rahmen der routinemäßigen Milzszintigraphie die Bedeutung der Konzentration von BMHP - Hg^{197} für die Kinetik der geschädigten Erythrocyten und für die Bildqualität untersucht.

Dabei ergaben sich folgende Ergebnisse:

1.) Eine deutliche Verschiebung der Price - Jones-Kurve in Abhängigkeit von der BMHP-Konzentration.

2.) Keine signifikanten Enzymveränderungen.

3.) Eine Erhöhung der Markierungsausbeute bei hohen Konzentrationen und der Sequestrationsgeschwindigkeit durch die Milz.

4.) Signifikant höhere Szintigrammqualitäten bei höheren Konzentrationen.

5.) Das Waschen der Erythrocyten vor der Inkubation mit BMHP erwies sich als nicht notwendig, da es keine entsprechende Verbesserung der Ergebnisse bringt, die den relativ großen Aufwand der Vorbereitungen dazu rechtfertigen würden.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Anger, K. und Feine, U.: Die Milz. In: Handbuch der Medizinischen Radiologie, Bd. XV/Teil 2, S. 877 - 919. Berlin - Heidelberg: Springer (1978).

2. Benesch, R.E. and Benesch R.: Relation between erythrocyte integrity and sulfhydryl groups. Arch. Biochem. 48, 38 - 42 (1954).

3. Blendinger, I.: Untersuchungen an Erythrocyten nach Schädigung mit 1-Bromomerkuri-2-hydroxypropan (BMHP). Inaug. Diss., Tübingen (1969).

4. Duesberg, R. und Fischer, J. : Die szintigraphische Darstellung der Milz als Ausdruck ihrer Lage und ihres Funktionszustandes. Med. Klin. 59, 429 (1964).

5. Erich, C. und Waller, H.D.: Zum Verhalten von SH-Verbindungen in Erythrocyten nach in vivo - Vergiftung mit Schwermetallen und Arsen. Klin. Wschr. 1967, 983 - 986.

6. Feine, U.: Szintigraphische Diagnostik von Milzerkrankungen. Radiologe 16, 128-134 (1976).

7. Fischer, J.: Die Milzszintigraphie. Radiologe 5, 372 - 387 (1965).

8. Fischer, J. : Milzdiagnostik mit Radioisotopen. Fortschr. Röntgenstr. 1965 , Beih., 40 - 46.

9. Fischer, J., Wolf, R. : Das Funktionsbild der sequestratorischen Leistung des retikulo - histiozytären Systems. Helvet. Med. Acta 31 (1964), 579 - 585.

10. Fischer, J., Mundschenk, H., Wolf, R.: Milzszintigraphie mit Bromomercuri (^{197}Hg)-2-hydroxypropan (BMHP). Fortschr. Röntgenstr. 103, 349 - 366 (1965).

11. Fischer, J., Mundschenk, H., Wolf, R. : Kombinierte Szintigraphie der Milz und Nieren mit BMHP^{197}. Fortschr. Röntgenstr., 1966, Beih., 95 - 97.

12. Gongora, R., Jammet, H., Bilski-Pasquier, G.: La scintigraphie splenique. Sem. Hôp. Paris 42. 1452 - 1459 (1966).

13. Gotta, H., Rochna Viola, E.M., Musso, A.M., Kremenchuzky, S. und Pecorini, V.: Kombinierte Szintigraphie der Milz und Nieren mit Verwendung von BMHP ^{197}Hg. Nuclear Medizin 8, 166-178 (1969).

14. Hennig, K., Franke, W.G., Woller, P., Knoll, P.: Bisherige Erfahrungen bei der Milz - Szintigraphie mit Bromomercuri-Hydroxypropan (BMHP-Hg^{197}). Nuclear Medizin 4, 370 - 382 (1965).

15. Hennig, K., Franke, W.G., Woller, P., Knoll, P.: Szintigraphie der Milz mit Brommerkuri - Hydroxypro-

pan (BMHP-Hg^{197}). Med. Welt (1966), 575 - 579.

16. Hennig, K., Franke, W.G., Woller, P., Knoll, P.: Weitere Erfahrungen mit der Milzszintigraphie. Strahlentherap. 129, 497 - 504 (1966).

17. Jacob, H.S. and Jandl, J.H.: Effect of membrane sulfhydryl deficiency on the shape and survival of red cells. Clin. Res. 9, 162 (1961).

18. Jacob, H.S., and Jandl, J.H.: Effects of sulfhydryl inhibition on red blood cells. I. Mechanism of hemolysis. J. clin. Invest. 41, 779 - 792 (1962).

19. Jacob, H.S. and Jandl, J.H.: Effects of sulfhydryl inhibition on red blood cells. II. Studies in vivo. J. clin. Invest. 41, 1514 - 1523 (1962).

20. Johnson, Ph.M., Herion, J.C., Mooring, S.L.: Scintillation scanning of the normal human spleen utilizing sensitized radio-activ erythrocytes. Radiology 74, 99 - 101 (1960).

21. Kuba, J., Knoll, P., Husak, V., Charamza, O., Wiedermann, M., Krc, I.: Zur Verwendung des ^{197}Hg-markierten Brommerkurhydroxypropans in der Milzszintigraphie. Z. ges. inn. Med. 20, 431 - 436 (1965).

22. Lin, S., Sannazzari, G.L.: Splenic and renal scan-

ning with 1-Bromomercuri-2-hydroxypropane (BMHP-Hg^{197}). Acta isotop. (Padova) 5, 263 - 270 (1965).

23. Löhr, G.W., Waller, H.D., Karges, O., Schlegel, B., Müller, A.A.: Zur Biochemie der Alterung menschlicher Erythrocyten. Klin. Wschr. 36, 1008 - 1013 (1958).

24. Müller-Seifert-v.Kress: Taschenbuch der Medizinisch-Klinischen Diagnostik, 69. Aufl. München: J.F. Bergmann 1966. S. 576 - 577.

25. Mundschenk, H. und Fischer, J.: Über das Verhalten von mit 1-Bromomercuri-2-hydroxypropan (BMHP) beladenen Erythrocyten im Tierversuch. Nucl. Med. 5, 355 - 368 (1966).

26. Schwartz, K.D., Knoll, P., Hamann, D., Loechel, M., und Potschwadek, B.: Die Szintigraphie der Milz mit Brommerkurihydroxypropan (^{197}Hg - BMHP). Fortschr. Röntgenstr. 103, 367 - 376, (1966).

27. Tarolo, G.L., Ricardi, A. e M. Bergonzi: Studio in vitro del processo di marcatura degli eritrociti umani con 1-bromo-mercuri-2-idrossipropano (BMHP) radioattivo. Acta isotop. (Padova) 6, 9 - 23 (1966).

28. Tartaroglu, N., Frey, K.W., Tsirimbas, A. und W. Stich: Die Isotopensplenographie. Eine neue Methode

zur Funktionsanalyse der Milz, ihre klinische Anwendung und Ergebnisse.
Klin. Wschr. 43, 857 - 863 (1965)

29. Teitel, P. and Nicolau, C.T.: Disk-sphere transformation and plasticity alteration of red blood cells. Nature (Lond.) 206, 409 - 410 (1965).

30. Wagner jr. H.N., Weiner, J.M., Mc.Afee, Martinez, J.: 1-mercuri-2-hydrocypropane (MHP). Arch. intern. Med. 113, 696 - 701 (1964).

31. Wagner jr., H.N., Mc.Afee, J.G., Weiner, J.M., Ilio, M., Martinez, J. and Caine jr., W.P.: The use of Hg-203 labaled bromomercurihydroxypropan (BMHP) in radioisotope scanning of the spleen. J.Nucl. Med. 4, 190 (1963).

32. Winkelmann, J.W., Wagner jr., H.N., Mc. Afee, J.G. and Mozley, J.M.: Visualization of the spleen in man by radioisotope scanning. Radiology 75, 465 - 466 (1960).

33. Wolf, F., Witte, S. und Kleyensteiber, G.: Der Einfluß cytostatischer Behandlung auf die Erythrocytenlebensdauer. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 66, 1041-1044 (1960).

Herrn Prof. Dr. med. U. Feine möchte ich besonders für die Überlassung des Themas , die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Institut und für die wert volle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit und der Auswertung der Ergebnisse danken.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. K. Anger und Herrn Dr. med. K. Hoffmann danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. med. H. D. Waller, Medizinische Universitätsklinik Tübingen, danke ich für die Möglichkeit der Enzymbestimmungen in seinem Labor.

Lebenslauf

Am 16.7.1941 wurde ich, Sigrid v. Kapff, geb. Sannwald, als Tochter des Rolf Sannwald und der Elfriede, geb. Gebhardt, in Stuttgart geboren. In Calw besuchte ich die Volksschule und das Gymnasium, das ich 1960 mit dem Abitur abschloß. Das Jahr 1951/52 verbrachte ich in Süd-Afrika. Nach dem Abitur absolvierte ich zunächst eine Haushaltsschule.

Von 1961 - 67 folgte das Medizinstudium. Die vorklinischen Semester studierte ich an der Universität Tübingen, das 1. klinische Semester in Freiburg, das 2. in Wien und kehrte dann an die Eberhard-Karls-Universität in Tübingen zurück, wo ich am 20.2.1968 mit dem Staatsexamen abschloß.

Im Anschluß daran war ich 1 Jahr als Doktorandin in der Nuklearmedizinischen Abteilung des Medizinischen Strahleninstitutes in Tübingen tätig. Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich in einer Landpraxis, in der II. Medizinischen Universitätsklinik in München und in der Chirurgischen Abteilung des Evangelischen Krankenhauses in

Kreuztal. Am 30.6.1970 erhielt ich die Approbation. Seit 1969 bin ich verheiratet. Wir haben 2 Kinder.

Im April 1977 begann ich am Gesundheitsamt Moers/Ndrh. Von Mai bis September 1979 absolvierte ich ein Praktikum in dem Psychiatrischen Alexianer Krankenhaus in Krefeld, und im Anschluß daran, von Oktober 1979 bis April 1980 den Amtsarztkurs an der Akademie für Öffentliches Gesundheitswesen in Düsseldorf.

Seither bin ich wieder am Gesundheitsamt in Moers tätig.

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (07472) 22145